

Е.В. Шлякто, Е.Р. Баранцевич, Н.С. Щербак, М.М. Галагудза

Институт экспериментальной медицины Федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург  
Институт сердечно-сосудистых заболеваний ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург

# Молекулярные механизмы формирования ишемической толерантности головного мозга. Часть 1

*В первой части обзора рассматриваются молекулярные механизмы ишемической толерантности, формирующейся в результате прекондиционирования головного мозга. Представлены сведения об индукторах, сенсорах, трансдукторах и эффекторах ранней и отсроченной ишемической толерантности.*

**Ключевые слова:** головной мозг, ишемия, реперфузия, прекондиционирование, ишемическая толерантность.

42

## Введение

Нарушение мозгового кровообращения — одна из ведущих причин инвалидизации и смертности во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире от инсульта страдают 15 млн человек [30]. В связи с резким увеличением продолжительности жизни населения и изменяющейся демографической ситуацией инсульт будет продолжать представлять серьезную медико-социальную проблему в течение ближайших 20 лет [16]. Среди различных причин инсульта преобладает ишемическое повреждение головного мозга (ГМ). Доля ишемических инсультов составляет 87% общего числа инсультов, тогда как 10% составляют геморрагические инсульты и всего 3% — инсульты, связанные с кровоизлиянием в субарахноидальное пространство [6]. По современным представлениям, ишемический инсульт — это снижение интенсивности кровоснабжения тканей ГМ, в результате которого происходит уменьшение доставки к нейронам необходимого количества глюкозы и кислорода, которые требуются для нормальной функции тканей ГМ [46, 48, 62]. Стратегию лечения ишеми-

ческого инсульта, которая направлена на предотвращение, прерывание или замедление последовательности биохимических или молекулярных процессов, приводящих к необратимому ишемическому повреждению нейронов, называют нейропротекцией [22]. На сегодняшний день накоплен значительный объем информации практически обо всех звеньях патологического процесса, запускающегося при ишемическом повреждении ГМ (рис. 1).

В настоящее время в экспериментальных и доклинических исследованиях обосновано применение множества субстанций и лекарственных препаратов нейропротективного действия, влияющих на разные этапы процесса ишемического повреждения нервной ткани. В то же время необходимо отметить, что к настоящему моменту ни один из исследованных лекарственных препаратов с доказанной в эксперименте нейропротективной активностью не нашел широкого применения в клинической практике [24, 64]. Именно поэтому перспективным направлением нейропротекции сегодня можно считать использование или стимуляцию внутренних защитных механизмов, заложенных в процессе эволюции и являющихся генетически детерминированными.

E.V. Shlyakhto, E.R. Barantsevitch, N.S. Shcherbak, M.M. Galagudza

Saint-Petersburg State Medical Pavlov's University, Saint-Petersburg  
Saint-Petersburg, Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre

## Molecular mechanisms of development of cerebral tolerance to ischemia. Part 1

*In the first part of this review molecular mechanisms of ischemic tolerance emerging as a result of preconditioning of the brain are discussed. Data on inductors, sensors, transducers and effectors of early and delayed ischemic tolerance are presented.*

**Key words:** brain, ischemia, reperfusion, preconditioning, ischemic tolerance.

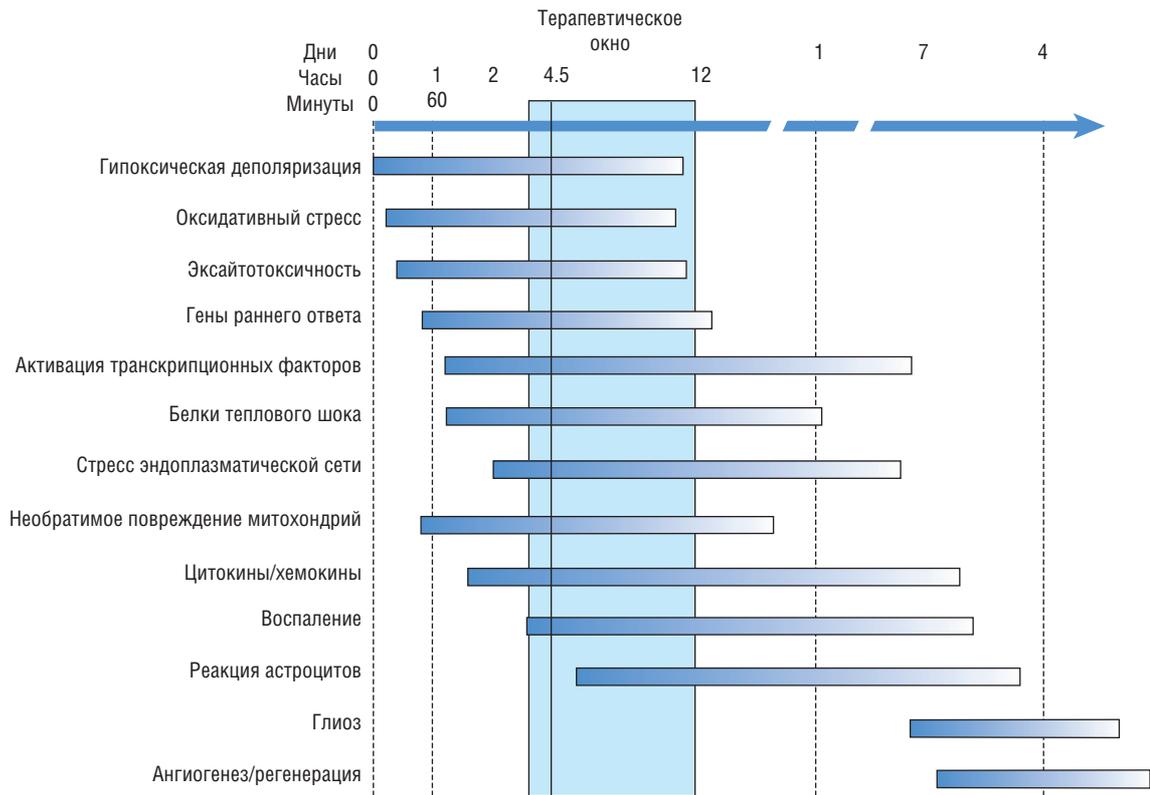


Рис. 1. Временная последовательность механизмов повреждения при ишемии головного мозга по J.C. Chavez и соавт., 2009 [8].

### Ишемическое прекондиционирование и ишемическая толерантность

Известно, что ишемия, в зависимости от продолжительности и степени выраженности, может приводить как к повреждающим, так и к протективным последствиям. Если ишемическое повреждение оказывается сублетальным, т.е. не вызывающим гибели нейронов, отмечается преобладание защитных механизмов, и последующее более продолжительное (тестовое) ишемическое состояние характеризуется лучшей переносимостью. Это явление известно как адаптация к повреждению или прекондиционирование (ПреК).

В историческом плане общие представления о ПреК сформировались много веков назад и нашли отражение еще в работах Парацельса, который отмечал, что «только доза делает яд ядом». Лежащий в основе ПреК адаптивный ответ можно наблюдать у представителей самых разнообразных живых организмов: от бактерий до млекопитающих [19]. Принято считать, что феномен ишемического ПреК впервые был открыт С.Е. Murry et al. в 1986 г. при моделировании регионарной ишемии миокарда у собак [52]. С другой стороны, еще в 1964 г. N.A. Dahl и W.M. Valfour установили, что короткие эпизоды глобальной аноксии значительно увеличивают продолжительность жизни крыс при последующей длительной аноксии [10]. Термины «прекондиционирование» и «толерантность» для обозначения этого явления были впервые предложены А. Janoff также в 1964 г. [31]. К сожалению, в то время эти экспериментальные работы не привлекли должного внимания неврологов. Классическое описание ишемического ПреК ГМ произошло намного позже, когда в 1990 г. в экспериментах на монгольских песчанках было установлено, что короткие ишемические стимулы защищают мозг от последующей продолжительной ишемии

[41]. Следует отметить, что для обозначения состояния повышенной устойчивости ГМ к ишемическому повреждению в результате активации эндогенных защитных механизмов под действием различных предварительных воздействий в литературе часто применяют термин «ишемическая толерантность» [14]. Таким образом, под ПреК чаще понимают сам процесс индукции нейропротективного фенотипа, а под ишемической толерантностью — результат в виде возросшей устойчивости ГМ к ишемии.

Известно, что защитные механизмы в ответ на ишемию активируются в клетках ГМ и без предварительных ПреК-стимулов, однако протективный ответ при этом оказывается недостаточным, что приводит к формированию глубокого необратимого повреждения [16, 21]. Формирование ишемической толерантности под действием ПреК-факторов связано с активацией дополнительных нейропротективных механизмов, которые могут быть условно разделены на пре- и постишемический защитный ответ. Как пре-, так и постишемические адаптивные реакции развиваются в результате активации генетического аппарата клетки (рис. 2).

В зависимости от характера стимула, вызывающего ишемическую толерантность, выделяют ишемическое и неишемическое ПреК ГМ. Во втором случае устойчивость ГМ к ишемии возрастает в результате предварительного воздействия различных индукторов неишемической природы, например, фармакологических агентов, физических факторов и др.

Несмотря на большое количество экспериментальных работ, доказывающих положительные эффекты ПреК в сердце, головном мозге, легких, печени, почках [44, 52, 57, 72], а также клинические доказательства существования ишемического ПреК ГМ у человека



Рис. 2. Формирование повреждения головного мозга и ишемической толерантности при preconditionировании по J.M. Gidday, 2006 [21]. Пояснения в тексте.

[51], сегодня этот защитный феномен до сих пор не нашел широкого применения в клинической практике. Во многом это связано с трудностью экстраполяции результатов, полученных на экспериментальных моделях, на реальную клиническую практику. Кроме того, в большинстве известных работ, посвященных изучению механизмов ишемической толерантности ГМ, авторами констатируется изменение определенных переменных (например, уровня экспрессии гена, концентрация в клетках белка и др.) после нанесения ПреК-стимула. В то же время остается неизвестным, является ли это изменение истинным механизмом повышения устойчивости ткани мозга к ишемии или представляет собой побочное молекулярное событие (эпифеномен), косвенно свидетельствующее об уже состоявшемся нейропротективном ответе [53].

Для проведения дальнейших экспериментальных работ и составления точных рекомендаций по проведению клинических исследований ПреК необходимо иметь однозначные ответы на следующие вопросы.

- Какова максимальная продолжительность тестовой ишемии ГМ, при которой еще сохраняется значимый нейропротективный эффект от применения ПреК-стимулов?
- Каким должен быть протокол ПреК для обеспечения максимально выраженной нейропротекции? При разработке протокола следует учитывать такие переменные, как число применяемых ишемических стимулов, их длительность, интервал между нанесением стимулов и началом тестовой ишемии, вид стимулов, индуцирующих ПреК.

Кроме того, необходимо учесть эффективность действия в сочетании с возрастом, полом, сопутствующей патологией, а также с видом клинической ситуации, при которых целесообразно использовать данный вид нейропротекции.

К сожалению, многие из перечисленных вопросов до сих пор остаются открытыми даже при анализе многочисленных экспериментальных исследований.

### Ранняя и отсроченная ишемическая толерантность головного мозга

Длительность ишемических ПреК-стимулов должна быть достаточной для того, чтобы инициировать защитную реакцию, и в то же время не настолько серьезной, чтобы вызвать необратимые повреждения. Так, в исследовании на монгольских песчанках при глобальной ишемии переднего мозга, вызванной 5-минутной окклюзией общих сонных артерий, изучали разные протоколы ишемического ПреК. Было установлено, что выживанию практически всех нейронов зоны СА1 гиппокампа способствовало применение 2 эпизодов ишемии по 2 мин, выполненных за 24 часа до 5-минутной окклюзии общих сонных артерий. При этом ишемический стимул длительностью в 1 минуту не способствовал формированию ишемической толерантности [41]. Первая экспериментальная работа, направленная на изучение временного интервала между ишемическим ПреК-стимулом и продолжительной ишемией на головном мозге у крыс, была опубликована в 1998 г. [3]. В экспериментах на крысах проводили 10-минутную окклюзию средней мозговой артерии с последующей реперфузией в течение 2, 6, 12 ч, а также 1, 2, 7, 14 и 21 сут, после чего выполняли постоянную окклюзию средней мозговой артерии. При анализе применения ишемического ПреК с различной длительностью реперфузии было установлено, что уменьшение объема инфаркта мозга и выраженности неврологического дефицита было зарегистрировано при моделировании постоянной окклюзии средней мозговой артерии спустя 1, 2, 7 сут после 10-минутной обратной окклюзии средней мозговой артерии [3]. Позднее эти временные рамки были подтверждены во многих экспериментальных исследованиях [14, 40, 42]. Таким образом, многими учеными был сделан вывод: для развития ишемической толерантности ГМ требуется как минимум 24 ч.

Однако существуют исследования, в которых продемонстрировано наличие ранней ишемической толерантности, возникающей менее чем через 24 ч после индуцирующего стимула. Так, в исследованиях на мышах

применение 3 эпизодов 5-минутной окклюзии средней мозговой артерии с последующей ее постоянной окклюзией приводило к значимому уменьшению зоны некроза и уменьшению степени выраженности неврологического дефицита, анализируемых через 24 ч после хирургических манипуляций [2]. В другом исследовании на модели фокальной ишемии ГМ у крыс было установлено, что 30-минутная окклюзия средней мозговой артерии с последующей реперфузией в течение 60 мин приводит к уменьшению зоны некроза, вызванного 180-минутной ишемией [66]. Наличие быстрого защитного ответа или развитие ранней ишемической толерантности было обнаружено и в других экспериментальных исследованиях с применением фокальной [1] и глобальной [58] ишемии ГМ у крыс.

Таким образом, выделяют 2 фазы ишемической толерантности мозга в ответ на предварительные сублетальные стимулы: ранняя и поздняя толерантность, и механизмы их развития существенно различаются. Большинство индукторов, в том числе ишемия и гипоксия, индуцируют оба типа ишемической толерантности [21, 40, 53]. При ранней толерантности протективный ответ возникает через несколько минут после воздействия сублетального стимула и длится до нескольких часов, после чего быстро исчезает. Для реализации отсроченной толерантности необходимо как минимум 24 ч с момента нанесения сублетального стимула, причем нейропротективный эффект поздней толерантности длится от нескольких дней до нескольких недель. Принято считать, что ранняя толерантность или ранняя фаза ПреК обусловлена изменениями внутриклеточного метаболизма, возникающими в результате посттрансляционной модификации регуляторных белков. И, напротив, отсроченная толерантность для своей реализации требует синтеза белков *de novo*. Совсем недавно было показано, что ишемическое ПреК приводит к изменению уровня экспрессии многих генов, которое, в свою очередь, приводит к становлению нейропротективного фенотипа [53]. В настоящем обзоре преимущественно рассмотрены механизмы поздней ишемической толерантности, имеющей более важное практическое значение.

### Сигнальные пути ишемической толерантности

В роли индукторов ишемической толерантности могут выступать не только транзиторные ишемические атаки до или после больших инсультов, но и короткие эпизоды ятрогенной ишемии, системное воспаление, гипербарическая оксигенация, гипо- и гипертермия, эпилептические припадки, распространенная корковая депрессия, метаболические и фармакологические агенты, а также бактериальный липополисахарид [20]. Литературные данные относительно различных индукторов ишемической толерантности представлены в табл. 1.

Необходимо отметить, что способность того или иного индуктора ишемической толерантности вызывать повышение устойчивости ГМ к последующей длительной ишемии определяется такими факторами, как продолжительность, интенсивность и кратность воздействия. В некоторых случаях суммарная «доза» ПреК-стимула слишком мала для того, чтобы вызвать достаточную активацию адаптивных механизмов, тогда как в других случаях, напротив, интенсивность ПреК чрезмерно велика, что приводит к повреждению. ПреК ГМ при помощи коротких эпизодов ишемии-реперфузии или гипоксии-реоксигенации изучено лучше всего. Однако ишемическая толерантность может быть индуцирована широким спектром стимулов неишемического характера

Таблица 1. Индукторы ишемической толерантности головного мозга по J.M. Gidday, 2006 [21]

Индуктор (ПреК-стимул)	Автор, год
Сублетальные эпизоды ишемии ГМ	K. Kitagawa et al., 1990 [41] K. Kitagawa et al., 2000 [43]
Гипоксия ГМ	N. Jones, M. Bergeron, 2001 [33]
Эпилептические припадки	H. Plamondon et al., 1999 [60]
Корковая распространяющаяся депрессия	N. Kawahara et al., 1995 [37] A. Douen et al., 2000 [17]
Гипероксия и оксидативный стресс	T. Ohtsuki et al., 1992 [54]
Длительная гипоперфузия	T. Ohtsuki et al., 1993 [55]
Гипертермия или тепловой шок	K. Kitagawa et al., 1991 [42]
Бактериальный липополисахарид	K. Furuya et al., 2005 [20]
Провоспалительные цитокины	U. Dirnagl et al., 2003 [14]
Анестетики (изофлуран, галотан, ксенон)	J. Gidday 2006 [21] T. Kirino 2002 [40] U. Dirnagl et al., 2003 [14]
Эритропоэтин	M. Bernaudin et al., 1999 [4]
Травма	L.W. Jenkins et al., 1989 [32]
Метаболические ингибиторы	J. Gidday 2006 [21] T. Kirino 2002 [40] U. Dirnagl et al., 2003 [14]
Короткие эпизоды ишемии скелетной мышцы	T. Vlasov et al., 2005 [73]
Физическая нагрузка	M. Endres et al., 2003 [18] Y.H. Ding et al., 2005 [13]

(см. табл. 1). С клинической точки зрения наибольшие перспективы связаны с использованием фармакологических индукторов ишемической толерантности, таких как эритропоэтин, анестетики, модуляторы метаболизма и др.

В процессе повышения устойчивости ткани ГМ к ишемии можно выделить несколько последовательных этапов, в реализации которых задействованы различные молекулярные мишени, а именно: сенсоры ПреК-стимула, трансдукторы сигнала и конечные эффекторы (рис. 3). В роли сенсоров ПреК-стимула, как правило, выступают мембранные рецепторы, активирующиеся либо под воздействием биологически активных соединений, выделяющихся из клеток после их стимуляции индуктором, либо непосредственно индуктора ишемической толерантности в том случае, если он имеет химическую природу. В частности, в качестве сенсоров могут выступать  $A_1$ -аденозиновые рецепторы [27], поскольку защитный эффект ПреК устранялся введением антагонистов данного подтипа аденозиновых рецепторов в экспериментах на монгольских песчанках [28, 38]. Некоторые молекулярные мишени могут одновременно выступать и как сенсоры, и как индукторы развития ишемической толерантности ГМ.

К трансдукторам сигнала относят вторичные мессенджеры, киназные каскады и транскрипционные факторы [21]. К трансдукторам сигнала относят митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК) и их фосфорилированные подсемейства (Ras, Raf, MEK, ERK) [11, 23, 34], Akt (протеинкиназа B) [25, 74, 75] и изоформа  $\epsilon$ -протеинкиназы C [63]. В ряде исследований в процессах трансдукции ПреК-стимула доказана роль эндотелиальной, нейрональной и индуцибельной изоформы синтазы оксида азота [2, 36, 39]. Учитывая тот факт, что

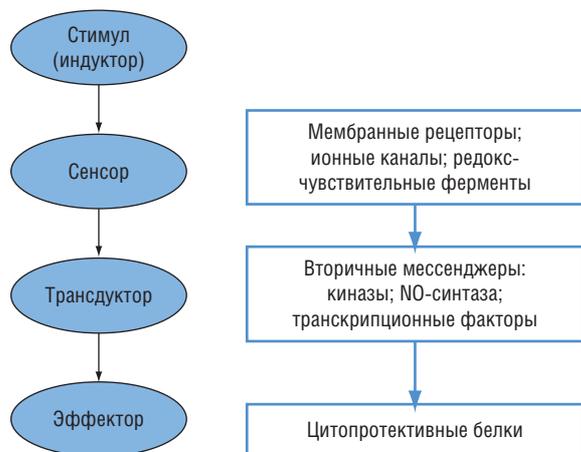


Рис. 3. Сигнальные пути ишемической толерантности головного мозга. Пояснения в тексте.

46

многие киназы и транскрипционные факторы являются редокс-чувствительными, активные формы кислорода также можно считать трансдукторами или преобразователями протективного сигнала [61, 78].

К трансдукторам сигнала при формировании ишемической толерантности относят ряд транскрипционных факторов, в частности белок-активатор 1 (AP1), цАМФ-зависимый связывающий белок (CREB), ядерный транскрипционный фактор κВ (NF-κВ) и др. Одним из наиболее хорошо изученных ключевых транскрипционных факторов, вовлеченных в формирование ишемической толерантности ГМ, является индуцируемый гипоксией фактор 1α (HIF-1α). HIF-1α — это транскрипционный фактор, регулирующий экспрессию более чем

200 генов, играющих важную роль в формировании устойчивости к ишемии и гипоксии [49]. HIF-1α представляет собой гетеродимер, состоящий из двух субъединиц — α и β. При нормоксии (pO<sub>2</sub> ~ 100 мм рт.ст.) α-субъединица HIF-1α подвергается деградации в протеасомах, что делает активацию HIF-1α-зависимых генов невозможной. Однако при понижении напряжения кислорода в тканях HIF-1α приобретает функциональную активность, в результате чего запускается экспрессия целого ряда генов. В частности, происходит повышение интенсивности синтеза таких гликолитических ферментов, как фосфофруктокиназа, пируваткиназа, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, фосфоглицераткиназа и др. [50, 65]. Это обеспечивает усиление образования аденозинтрифосфата (АТФ) в результате анаэробного метаболизма глюкозы. С другой стороны, HIF-1α усиливает экспрессию мембранных транспортеров глюкозы (GLUT1 и GLUT3), что дополнительно способствует включению глюкозы в гликолитический путь. К HIF-1α-зависимым генам относятся также гены индуцибельной NO-синтазы и циклооксигеназы 2 (ЦОГ-2). Оба фермента обладают нейропротективными эффектами, в основном за счет вазодилатации и улучшения коронарного кровотока. Еще одна группа генов, транскрипция которых усиливается под действием HIF-1α, это гены факторов роста, в частности сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF). Установлено, что HIF-1α участвует в реализации нейропротективного эффекта ПреК при ишемическом инсульте, а также при некоторых нейродегенеративных заболеваниях [29]. ПреК стимулирует образование в митохондриях небольших количеств активных форм кислорода, которые ингибируют активность пролил-4-гидроксилазы (PHD), тем самым защищая HIF-1α-субъединицы от деградации в протеасомах [9, 70]. Активный димер HIF-1 транслоцируется в ядро, где активирует экспрессию вышеуказанных цитопротективных белков (рис. 4) [9, 29].

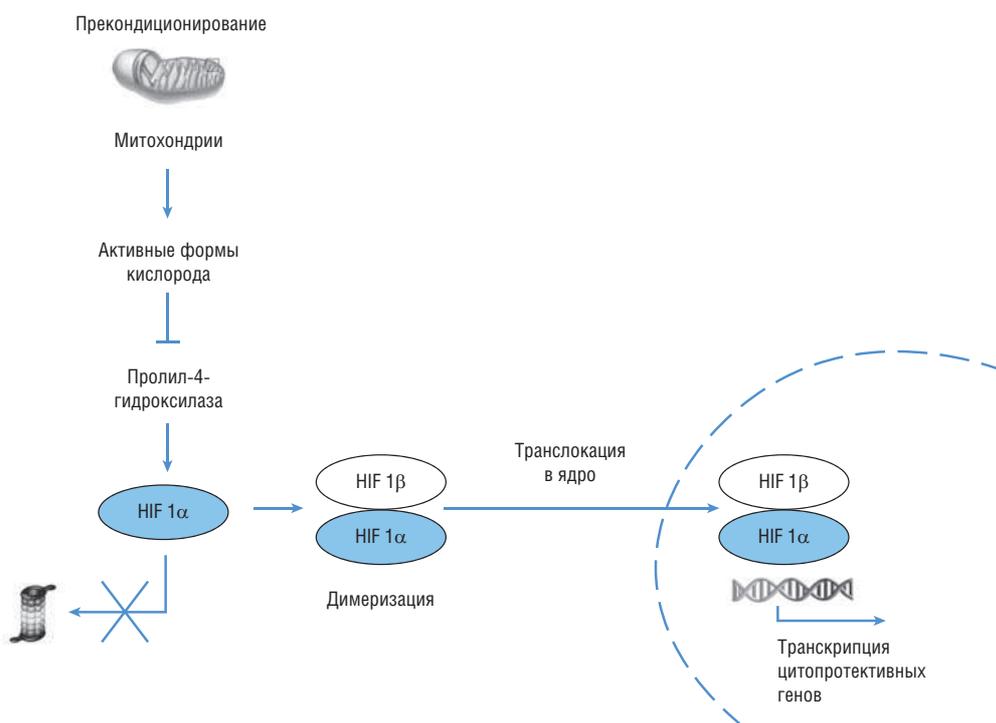


Рис. 4. Индуцируемый гипоксией фактор-1α — трансдуктор цитопротективного сигнала при формировании ишемической толерантности головного мозга.

Наконец, эффекторы непосредственно отвечают за повышение устойчивости ткани ГМ к ишемии. Долгое время среди исследователей ишемической толерантности ГМ доминировало представление о том, что разнообразные трансдукторы сигнала активируют единственный конечный эффектор. В качестве конечного эффектора рассматривали мембранные и митохондриальные АТФ-чувствительные калиевые каналы [27, 76]. По мнению ряда авторов, активация митохондриальных АТФ-чувствительных калиевых каналов, происходящая в ходе ПреК, непосредственно ведет к росту устойчивости нейронов к ишемии за счет умеренного отека матрикса митохондрий, оптимизирующего процесс продукции АТФ, ослабления поступления  $Ca^{2+}$  в митохондрии и уменьшения образования повреждающих концентраций активных форм кислорода в ходе реперфузии. Однако в последних обзорах по механизмам ишемической толерантности этот взгляд подвергнут серьезной критике, и даже ставится под сомнение само существование митохондриальных АТФ-чувствительных калиевых каналов, поскольку гены субъединиц данных каналов никогда не были с точностью идентифицированы и клонированы. В настоящее время предложено рассматривать не единый конечный эффектор ПреК ГМ, а комплексный геномный ответ, приводящий к изменению уровня экспрессии генов многих белков-эффекторов, ответственных за выживание нейронов в ходе ишемии и последующей реперфузии [67, 68]. К такого рода механизмам относят ослабление эксайтотоксичности, активацию эндогенных антиоксидантных систем, противовоспалительные эффекты, модуляцию функции глиальных клеток, изменения регионарного кровотока, сосудистой реактивности и др. [15, 21, 35]. Более подробно эффекторные механизмы ишемической толерантности ГМ рассмотрены ниже.

Гены, активированные ПреК, существенно отличаются от генов, активация которых происходит при ишемии без ПреК. Закономерности генетических изменений, индуцированных 15-минутным ишемическим ПреК перед 60-минутной фокальной ишемией ГМ, были изучены на мышцах. При помощи микрочипового анализа сравнивали число экспрессирующихся генов при ишемии без ишемического ПреК и с ПреК. Было установлено, что через 3 ч после ишемии экспрессия генов совпадала в двух группах на 37%, а через 24 ч после ишемии — только на 17%. Более того, был сделан вывод о том, что гены, экспрессирующиеся после применения ПреК, не совпадают с набором генов, экспрессирующихся при повреждающей ишемии в отсутствие ПреК. При сравнении числа экспрессированных генов при ишемии с ПреК и без него было установлено, что при ишемии число экспрессирующихся генов значительно возрастает, в то время как при ишемии с ПреК оно уменьшается до 77%. Было выдвинуто предположение о том, что ПреК приводит к изменению в числе транскрибируемых генов, т.е. супрессирует часть генов, проявляя, таким образом, протективный эффект [68, 69].

Изменения экспрессии генов в ГМ после ПреК имеют различные временные профили. Так, после ПреК некоторые гены экспрессируются или репрессируются в течение нескольких минут или часов, а для изменения уровня экспрессии других генов требуется несколько дней. Для некоторых генов изменения экспрессии носят временный характер, в то время как для других эти

изменения сохраняются в течение длительного времени [5, 12, 68, 71].

Реализацию нейропротективного эффекта при ишемической толерантности было предложено рассматривать в 3 различных временных интервалах: до повреждающей ишемии, во время нее и в период реперфузии [21]. Первый этап следует сразу за ПреК-стимулом и предшествует продолжительной ишемии. В этом периоде в клетках нервной ткани происходит повышение концентрации транскрипционных факторов, гликолитических ферментов, структурных и транспортных белков, трофических и антиапоптотических факторов, а также белков-регуляторов клеточного цикла. Появление этих цитопротективных белков свидетельствует о том, что ткань готова противостоять надвигающейся повреждающей ишемии [21].

Второй период реализации защитного механизма относится непосредственно к самой ишемии. Ишемическое повреждение нейронов в условиях ПреК приводит к гораздо менее серьезным последствиям. Потенциальным механизмом защиты нейронов в этом периоде служит повышение содержания тормозных нейротрансмиттеров с одновременным понижением уровня внеклеточного глутамата. Сведения о концентрации запасов высокоэнергетических фосфатов, промежуточных продуктов гликолиза и активности окислительных реакций в период ишемии противоречивы и во многом зависят от используемой экспериментальной модели, общего состояния и возраста организма [7, 56].

Механизмы повреждения, возникающие в периоде постишемической реперфузии, также ослабляются при ишемической толерантности [21]. Эффекторные механизмы в этот временной интервал направлены на стабилизацию энергетического обмена клетки, подавление образования повреждающих концентраций активных форм кислорода и азота, а также на ингибирование постишемического воспаления. Механизмы толерантности, работающие на уровне функционирования эндоплазматического ретикулула, способствуют восстановлению синтеза специфических для нейронов белков [26, 56]. Более того, уменьшается интенсивность процесса постишемической агрегации белков, увеличивается скорость репарации ДНК после оксидативного повреждения [45, 47]. Многие эффекторные механизмы в этом периоде направлены на нормализацию функции митохондрий, в частности на стимуляцию окислительного фосфорилирования, ликвидацию перегрузки матрикса митохондрий кальцием и подавление митохондриальных механизмов запуска апоптоза [59, 77].

Примечательно, что механизмы ишемической толерантности могут различаться в зависимости от вида индуктора. Так, например, при сравнении геномного профиля ГМ крыс, подвергшихся предварительному ПреК-стимулам в виде коротких эпизодов ишемии или низких доз липополисахарида, было установлено, что различные стимулы приводили к увеличению уровня экспрессии разных наборов генов [69]. По-видимому, начальные звенья сигнальных путей ишемической толерантности могут различаться в зависимости от природы индуктора, тогда как конечные этапы, связанные с активацией эффекторов, являются универсальными для всех стимулов.

*Работа выполнена при поддержке гранта Президента России по государственной поддержке ведущих научных школ (НШ-2359.2012.7)*

## REFERENCES

1. Shmonin A.A., Bajsa A.E., Mel'nikova E.V., i dr. Zashchitnye `effekty rannego ishemicheskogo pre Kondicionirovaniya pri fokal'noj ishemii mozga u krys: rol' kollateral'nogo krovoobrascheniya. *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal*. 2011; 97 (2): 203-214.
2. Atochin D.N., Clark J., Demchenko I.T. et al. Rapid cerebral ischemic preconditioning in mice deficient in endothelial and neuronal nitric oxide synthases. *Stroke*. 2003; 34 (5): 1299-1303.
3. Barone F.C., White R.F., Spera P.A. et al. Ischemic preconditioning and brain tolerance: temporal histological and functional outcomes, protein synthesis requirement, and interleukin-1 receptor antagonist and early gene expression. *Stroke*. 1998; 29 (9): 1937-1950.
4. Bernaudin M., Marti H.H., Roussel S. et al. A potential role for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 1999; 19 (6): 643-651.
5. Bernaudin M., Tang Y., Reilly M. et al. Brain genomic response following hypoxia and re-oxygenation in the neonatal rat. Identification of genes that might contribute to hypoxia-induced ischemic tolerance. *J. Biol. Chem*. 2002; 277: 39728-39738.
6. Bolacos J.P., Moro M.A., Lizasoain I., Almeida A. Mitochondria and reactive oxygen and nitrogen species in neurological disorders and stroke: therapeutic implications. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2009; 61: 1299-1315.
7. Brucklacher R.M., Vannucci R.C. Vannucci S.J. Hypoxic preconditioning increases brain glycogen and delays energy depletion from hypoxia-ischemia in the immature rat. *Dev. Neurosci*. 2002; 24: 411-417.
8. Chavez J.C., Hurko O., Barone F.C., Feuerstein G.Z. Pharmacologic interventions for stroke: looking beyond the thrombolysis time window into the penumbra with biomarkers, not a stopwatch. *Stroke*. 2009; 40 (10): 558-563.
9. Correia S.C., Carvalho C., Cardoso S., et al., Mitochondrial preconditioning: a potential neuroprotective strategy. *Front. Aging Neurosci*. 2010; 2: 138.
10. Dahl N.A., Balfour W.M. Prolonged anoxic survival due to anoxia pre-exposure: brain atp, actate, and pyruvate. *Am. J. Physiol*. 1964; 207: 452-456.
11. Dawson V.L. Dawson T.M. Neuronal ischemic preconditioning. *Trends Pharmacol. Sci*. 2000; 21: 423-424.
12. Dhodda V.K., Sailor K.A., Bowen K.K. et al. Putative endogenous mediators of preconditioning-induced ischemic tolerance in rat brain identified by genomic and proteomic analysis. *J. Neurochem*. 2004; 89: 73-89.
13. Ding Y.H., Young C.N., Luan X. et al. Exercise preconditioning ameliorates inflammatory injury in ischemic rats during reperfusion. *Acta Neuropathol*. 2005; 109 (3): 237-246.
14. Dirnagl U., Simon R.P., Hallenbeck J.M. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci*. 2003; 26: 248-254.
15. Dirnagl U., Becker K., Meisel A. Preconditioning and tolerance against cerebral ischaemia: from experimental strategies to clinical use. *Lancet Neurol*. 2009; 8: 398-412.
16. Donnan G.A., Fisher M., Macleod M., Davis S.M. Stroke. *Lancet*. 2008; 371: 1612-1623.
17. Douen A.G., Akiyama K, Hogan M.J. et al. Preconditioning with cortical spreading depression depression decreases intras ischemic cerebral glutamate levels and downregulates excitatory amino acid transporters EAAT1 and EAAT2 from rat cerebral cortex plasma membranes. *J. Neurochem*. 2000; 75: 812-818.
18. Endres M., Gertz K., Lindauer U. et al. Mechanisms of stroke protection by physical activity. *Ann. Neurol*. 2003; 54 (5): 582-590.
19. Feder M.E., Hofmann G.E. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Ann. Rev. Physiol*. 1999; 61: 243-282.
20. Furuya K., Zhu L., Kawahara N. et al. Differences in infarct evolution between lipopolysaccharide-induced tolerant and non-tolerant conditions to focal cerebral ischemia. *J. Neurosurg*. 2005; 103: 715-723.
21. Gidday J.M. Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance. *Nat. Rev. Neurosci*. 2006; 7: 437-448.
22. Ginsberg M.D. Neuroprotection for ischemic stroke: past, present and future. *Neuropharmacology*. 2008; 55 (3): 363-389.
23. Gonzalez-Zulueta M., Feldman A.B., Klesse L.J. et al. Requirement for nitric oxide activation of p21(ras)/extracellular regulated kinase in neuronal ischemic preconditioning. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000; 97 (1):436-441.
24. Green A.R. Pharmacological approaches to acute ischaemic stroke: reperfusion certainly, neuroprotection possibly. *Br. J. Pharmacol*. 2008; 153: 325-338.
25. Hashiguchi A., Yano S., Morioka M. et al. Up-regulation of endothelial nitric oxide synthase via phosphatidylinositol 3-kinase pathway contributes to ischemic tolerance in the CA1 subfield of gerbil hippocampus. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2004; 24 (3): 271-279.
26. Hayashi T., Saito A., Okuno S. et al. Induction of GRP78 by ischemic preconditioning reduces endoplasmic reticulum stress and prevents delayed neuronal cell death. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2003; 23: 949-961.
27. Heurteaux C., Lauritzen I., Widmann C., Lazdunski M. Essential role of adenosine, adenosine A1 receptors, and ATP-sensitive K+ channels in cerebral ischemic preconditioning. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995; 92: 4666-4670.
28. Hiraide T., Katsura K., Muramatsu H. et al. Adenosine receptor antagonists cancelled the ischemic tolerance phenomenon in gerbil. *Brain Res*. 2001; 910: 94-98.
29. Hollmann M., Hartley M., Heinemann S. Ca2+ permeability of KA-AMPA gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science*. 1991; 252 (5007): 851-853.
30. <http://www.strokecenter.org/patients/stats.htm>
31. Janoff A. Alterations in lysosomes (intracellular enzymes) during shock: effects of preconditioning (tolerance) and protective drugs. *Int. Anesthesiol. Clin*. 1964; 2: 251-269.
32. Jenkins L.W., Moszynski K. Lyeth B.G. et al. Increased vulnerability of the mildly traumatized rat brain to cerebral ischemia: the use of controlled secondary ischemia as a research tool to identify common or different mechanisms contributing to mechanical and ischemic brain injury. *Brain Res*. 1989; 477: 211-224.
33. Jones N.M., Bergeron M. Hypoxic preconditioning induces changes in hif-1 target genes in neonatal rat brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2001; 21: 1105-1114.
34. Jones N.M. Bergeron M. Hypoxia-induced ischemic tolerance in neonatal rat brain involves enhanced ERK1/2 signaling. *J. Neurochem*. 2004; 89: 157-167.
35. Kapinya K.J. Ischemic tolerance in the brain. *Acta Physiol. Hung*. 2005; 92: 67-92.
36. Kapinya K.J., Lowl D., Futterer C. et al. Tolerance against ischemic neuronal injury can be induced by volatile anesthetics and is inducible NO synthase dependent. *Stroke*. 2002; 33 (7): 1889-1898.
37. Kawahara N., Ruetzler C.A., Klatzo I. Protective effect of spreading depression against neuronal damage following cardiac arrest cerebral ischemia. *Neurol. Res*. 1995; 17: 9-16.
38. Kawahara N., Ide T., Saito N., et al. Propentofylline potentiates induced ischemic tolerance in gerbil hippocampal neurons via adenosine receptor. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 1998; 18: 472-475.
39. Kawahara K., Yanoma J., Tanaka M. et al. Nitric oxide produced during ischemia is toxic but crucial to preconditioning-induced

- ischemic tolerance of neurons in culture. *Neurochem. Res.* 2004; 29: 797–804.
40. Kirino T. Ischemic tolerance. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002; 22 (11): 1283–1296.
  41. Kitagawa K., Matsumoto M., Tagaya M. et al. 'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain. *Brain Res.* 1990; 528 (1): 21–24.
  42. Kitagawa K., Matsumoto M., Tagaya M. et al. Hyperthermia-induced neuronal protection against ischemic injury in gerbils. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1991; 11 (3): 449–452.
  43. Kitagawa K., Matsumoto M., Ohtsuki T. et al. Extended neuronal protection induced after sublethal ischemia adjacent to the area with delayed neuronal death. *Neuroscience.* 2000; 96: 141–146.
  44. Kume M., Yamamoto Y., Saad S. et al. Ischemic preconditioning of the liver in rats: implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury. *J. Lab. Clin. Med.* 1996; 128: 251–258.
  45. Li W., Luo Y., Zhang F. et al. Ischemic preconditioning in the rat brain enhances the repair of endogenous oxidative DNA damage by activating the base-excision repair pathway. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2006; 26 (2): 181–198.
  46. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol. Rev.* 1999; 79: 1431–1568.
  47. Liu C., Chen S., Kamme F. Hu B.R. Ischemic preconditioning prevents protein aggregation after transient cerebral ischemia. *Neuroscience.* 2005; 134: 69–80.
  48. Lo E.H., Dalkara T., Moskowitz M.A. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nat. Rev. Neurosci.* 2003; 4: 399–415.
  49. Loor G., Schumacker P.T. Role of hypoxia-inducible factor in cell survival during myocardial ischemia-reperfusion. *Cell Death Differ.* 2008; 15 (4): 686–690.
  50. Iyer N.V., Kotch L.E., Agani F. et al. Cellular and developmental control of O<sub>2</sub> of hypoxia-inducible factor 1. *Genes & Dev.* 1998; 12: 149–162.
  51. Moncayo J., de Freitas G.R., Bogousslavsky J. et al. Do transient ischemic attacks have a neuroprotective effect? *Neurology.* 2000; 54:2089–2094.
  52. Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986; 74 (5): 1124–1136.
  53. Obrenovitch T.P. Molecular physiology of preconditioning-induced brain tolerance to ischemia. *Physiol. Rev.* 2008; 88 (1): 211–247.
  54. Ohtsuki T., Matsumoto M., Kuwabara K. et al. Influence of oxidative stress on induced tolerance to ischemia in gerbil hippocampal neurons. *Brain Res.* 1992; 599: 246–252.
  55. Ohtsuki T., Matsumoto M., Kitagawa K. et al. Induced resistance and susceptibility to cerebral ischemia in gerbil hippocampal neurons by prolonged but mild hypoperfusion. *Brain Res.* 1993; 614: 279–284.
  56. Paschen W., Mies G. Effect of induced tolerance on biochemical disturbances in hippocampal slices from the gerbil during and after oxygen/glucose deprivation. *Neuroreport.* 1999; 10: 1417–1421.
  57. Pasupathy S., Homer-Vanniasinkam S. Surgical implications of ischemic preconditioning. *Arch. Surg.* 2005; 140: 405–409.
  58. Perez-Pinzon M.A., Xu G.P., Dietrich W.D. et al. Rapid preconditioning protects rats against ischemic neuronal damage after 3 but not 7 days of reperfusion following global cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1997; 17 (2): 175–182.
  59. Perez-Pinzon M.A. Neuroprotective effects of ischemic preconditioning in brain mitochondria following cerebral ischemia. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2004; 36: 323–327.
  60. Plamondon H., Blondeau N., Heurteaux C., Lazdunski M. Mutually protective actions of kainic acid epileptic preconditioning and sublethal global ischemia on hippocampal neuronal death: involvement of adenosine A1 receptors and KATP channels. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1999; 19: 1296–1308.
  61. Puisieux F., Deplanque D., Bulckaen H. et al. Brain ischemic preconditioning is abolished by antioxidant drugs but does not up-regulate superoxide dismutase and glutathion peroxidase. *Brain Res.* 2004; 1027 (1–2): 30–37.
  62. Rami A., Bechmann I., Stehle J.H. Exploiting endogenous antiapoptotic proteins for novel therapeutic strategies in cerebral ischemia. *Prog. Neurobiol.* 2008; 85: 273–296.
  63. Raval A.P., Dave K.R., Mochly-Rosen D. et al. PKC is required for the induction of tolerance by ischemic and NMDA-mediated preconditioning in the organotypic hippocampal slice. *J. Neurosci.* 2003; 23: 384–391.
  64. Sandercock P., Berge E., Dennis M. et al. A systematic review of the effectiveness, cost-effectiveness and barriers to implementation of thrombolytic and neuroprotective therapy for acute ischaemic stroke in the NHS. *Health Technol. Assess.* 2002; 6 (26): 1–112.
  65. Semenza G.L., Jiang B.H., Leung S.W. et al. Hypoxia response elements in the aldolase A, enolase 1, and lactate dehydrogenase A gene promoters contain essential binding sites for hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 32529–32537.
  66. Stagliano N.E., Perez-Pinzon M.A., Moskowitz M.A., Huang P.L. Focal ischemic preconditioning induces rapid tolerance to middle cerebral artery occlusion in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1999; 19 (7): 757–761.
  67. Stenzel-Poore M.P., Stevens S.L., Simon R.P. Genomics of preconditioning. *Stroke.* 2004; 35: 2683–2686.
  68. Stenzel-Poore M.P., Stevens S.L., Xiong Z. et al. Effect of ischaemic preconditioning on genomic response to cerebral ischaemia: similarity to neuroprotective strategies in hibernation and hypoxia-tolerant states. *Lancet.* 2003; 362: 1028–1037.
  69. Stenzel-Poore M.P., Stevens S.L., King J.S., Simon R.P. Preconditioning reprograms the response to ischemic injury and primes the emergence of unique endogenous neuroprotective phenotypes: a speculative synthesis. *Stroke.* 2007; 38: 680–685.
  70. Tanaka H., Grooms S.Y., Bennett M.V., Zukin R.S. The AMPAR subunit GluR2: still front and center-stage. *Brain Res.* 2000; 886(1–2): 190–207.
  71. Tang Y., Pacary E., Freret T. et al. Effect of hypoxic preconditioning on brain genomic response before and following ischemia in the adult mouse: identification of potential neuroprotective candidates for stroke. *Neurobiol. Dis.* 2006; 21 (1): 18–28.
  72. Toosy N., McMorris E.L., Grace P.A., Mathie R.T. Ischaemic preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury. *BJU Int.* 1999; 84: 489–494.
  73. Vlasov T.D., Korzhhevskii D.E., Polyakova E.A. Ischemic preconditioning of the rat brain as a method of endothelial protection from ischemic/repercussion injury. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2005; 35: 567–572.
  74. Wick A., Wick W., Waltenberger J. et al. Neuroprotection by hypoxic preconditioning requires sequential activation of vascular endothelial growth factor receptor and Akt. *J. Neurosci.* 2002; 22 (15): 6401–6407.
  75. Yano S., Morioka M., Fukunaga K. et al. Activation of Akt/protein kinase B contributes to induction of ischemic tolerance in the CA1 subfield of gerbil hippocampus. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2001; 21 (4): 351–360.
  76. Yoshida M., Nakakimura K., Cui Y.J. et al. Adenosine A1 receptor antagonist and mitochondrial ATP-sensitive potassium channel blocker attenuate the tolerance to focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2004; 24: 771–779.
  77. Zhang H.X., Du G.H. Zhang J.T. Ischemic preconditioning preserves brain mitochondrial functions during the middle cerebral artery occlusion in rat. *Neurol. Res.* 2003; 25: 471–476.
  78. Zhang X., Xiong L., Hu W. et al. Preconditioning with prolonged oxygen exposure induces ischemic tolerance in the brain via oxygen free radical formation. *Can. J. Anaesth.* 2004; 51 (3): 258–263.

**КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

**Шляхто Евгений Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАМН, директор ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России, заведующий кафедрой факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

**Адрес:** 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

**Тел.:** (812) 702-37-00

**E-mail:** Shlyakhto@inbox.ru

**Баранцевич Евгений Робертович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии и мануальной медицины ФПО СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, заведующий НИО ангионеврологии ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России

**Адрес:** 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8

**Тел/факс:** 8 (812) 233-45-26

**E-mail:** profossrebr@yandex.ru

**Щербак Наталия Сергеевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории неотложной кардиологии Института сердечно-сосудистых заболеваний СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, ведущий научный сотрудник лаборатории нанотехнологий ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России

**Адрес:** 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

**Тел.:** (812) 702-37-00

**E-mail:** shcherbakns@yandex.ru

**Галагудза Михаил Михайлович**, доктор медицинских наук, руководитель Института экспериментальной медицины ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России, профессор кафедры патофизиологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

**Адрес:** 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8

**E-mail:** galagoudza@mail.ru